



TITLE:

ELECTRONMICROSCOPIC STUDIES OF
HEPATIC RIBOSOMES - OBSERVATION BY
SHADOW CASTING METHOD(Abstract_要旨
)

AUTHOR(S):

Yahara, Shoshi

CITATION:

Yahara, Shoshi. ELECTRONMICROSCOPIC STUDIES OF HEPATIC RIBOSOMES -
OBSERVATION BY SHADOW CASTING METHOD. 京都大学, 1967, 医学博士

ISSUE DATE:

1967-07-24

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/212275>

RIGHT:

氏 名	矢 原 庄 司 や はら しょう し
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	論 医 博 第 371 号
学 位 授 与 の 日 付	昭 和 42 年 7 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 題 目	ELECTRONMICROSCOPIC STUDIES OF HEPATIC RIBOSOMES —OBSERVATION BY SHADOW CASTING METHOD— (肝リボゾームの電子顕微鏡的研究—シャドウイング法による観察—)
論文調査委員	(主 査) 教 授 井 上 章 教 授 荒 木 辰 之 助 教 授 東 昇

論 文 内 容 の 要 旨

蛋白合成の主要な場となるリボゾームの構造に関しては、従来その解離過程の解察から、2種類の亜粒子より成るものと考えられていたが、その後 Petermann 等の研究によってさらに複雑な解離機構の存在が考えられるにいたった。最近田代および Siekevitz は先ず肝リボゾーム (77S)→60S 粒子+50S 粒子の解離が起こり、それぞれの成分粒子が 47S および 32S の大小2種の亜粒子よりなることを明らかにした。そこでこれらの肝リボゾームの構成成分粒子の電子顕微鏡的観察を行なったのが本研究である。

モルモット肝から分離精製したリボゾームは、0.05 M KCl を含む 0.001 M トリス緩衝液に透析することにより 50S および 60S の2成分に不完全解離し、EDTA 処理によって大亜粒子 (47S) と小亜粒子 (32S) に解離することを確認し、これら種々の成分粒子を蔗糖密度勾配遠心法によって分離した後、グルタルアルデヒドで固定、Pt-Pd 合金で Shadow Casting を施して電子顕微鏡的観察が行なわれた。その結果、次のことが明らかにされた。

(1) 未解離リボゾーム試料の電子顕微鏡的観察によって、超遠心分析の結果に一致して、その約50%がモノマー粒子として存在し、残りの粒子はその集合体であることが明らかにされた。これらの集合体中のリボゾーム粒子の中には、線維状物質で接続した、ポリゾームと思われるものが見られる。

(2) リボゾームモノマーは、幅 320A (金属 Shadow 粒子に対する補正を含まず)、高さ 200A の典型的な球状粒子である。これらの値は、粒子を球状と見なしてその沈降係数および粒子重量より算出した流体力学的等価直径より小であるが、その偏比容と粒子重量より算出した、水和していない剛体粒子の径よりかなり大きい。このことは、おそらく Specimen grid 上で乾燥する間に粒子の収縮があったためと考えられる。

(3) 50S 成分の電子顕微鏡的観察は、この分画中に、比較的径の大きい (280), 球形に近いが変形しやすい粒子と、径の比較的小さい (210A), やや扁平な粒子との2種類が存在することを明らかにした。いずれも未解離リボゾーム粒子に比して明らかに小で、50S 成分がこの未解離リボゾームの unfold したも

のであるとの見解を支持することはできない。その形状、粒子量等から、これら2種類の粒子はそれぞれ大および小亜粒子に相当するものと思われる。その存在が予想される亜粒子のダイマーは、トリス緩衝液による稀釈、或いはグルタルアルデヒド固定によってモノマーに解離したものと考えられる。

(4) EDTA 処理により得られるリボゾームの大亜粒子である 47S 粒子および小亜粒子と考えられる 32S 粒子は、いずれもほぼ球形であるが、その大きさ、変形しやすいこと、或いは粒子の境界があまり明瞭でないこと等の点で 50S 分画中の粒子とやや異なり、かなり強く水和しているものと思われる。

(5) この大亜粒子には、しばしば RNA またはリボ核蛋白の unfolding によると考えられる線維状物質の付着しているのが観察されている。この線維状物質によって大小亜粒子が結合するという積極的な所見は得られていないが、その可能性を示唆している。

以上の電子顕微鏡によるリボゾームおよびその構成成分粒子の観察および流体力学的等価半径との比較は、亜粒子のダイマーの存在を電顕的に確認することには成功しなかったが、田代、Siekevitz らの見解を支持するものといえることができる。

論文審査の結果の要旨

リボゾーム粒子の構造に関しては、じゅうらいから超遠心分析による粒子の解離過程の研究を基として論ぜられてきたが、最近田代らによって、その構成成分粒子の超遠心法による詳細な研究が行なわれ、新しい解離機構が提案されている。

申請者はそこで、モルモット肝から分離精製したリボゾームを用い、田代らの超遠心法による研究を電子顕微鏡的観察によって裏づけしようと試み、その結果をまとめたのが本申請論文である。

未解離、不完全および完全解離状態のリボゾーム標品を作製し、まず田代らの成績を確認するとともに、Shadow-Casting 法を用いて電顕的観察を行ない、さらに電顕的に得られた粒子径を、超遠心法による沈降係数および分子量を用いて算出した流体力学的等価粒子径および水和していない剛体粒子径と比較し、電顕的観察より推定される水和状態および電顕試料作製時の影響を考慮すると、田代らの見解に一致するものであるとの結論を得ている。

以上の成果は、技術的にむづかしいリボゾームの成分粒子の電顕的観察に成功したもので、リボゾームの基礎的研究としてその寄与は大きく、したがって本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認定する。